

А.В.КОМУШЕНКО, А.Н.КОСИНЕЦ

## ИММУНОКОРРИГИРУЮЩАЯ ТЕРАПИЯ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ ОСТЕОМИЕЛИТОМ

Витебский государственный  
медицинский университет, Беларусь

**Повышение эффективности лечения больных с гнойными осложнениями травм основано на формировании защитно-адаптивных механизмов и их определяющем влиянии на выбор методов лечения.**

При определении характера изменений гомеостаза у больных хроническим посттравматическим остеомиелитом (ХПТО) и выбора путей их коррекции большое значение придаётся клинко-лабораторному анализу, составляющей частью которого является целый ряд иммунологических тестов [1]. В патогенезе остеомиелита можно выделить 4 группы факторов риска:

- посттравматическое снижение иммунологической реактивности и формирование иммунных комплексов;
- посттравматическое нарушение общей гемодинамики и регионарной микроциркуляции, нарушение местных окислительных процессов;
- постепенное формирование очага хронического воспаления;
- итоговое снижение репаративной регенерации костной ткани в очаге поражения.

Нарушение функционирования иммунной системы, способствующее развитию гнойных осложнений травм и, в частности, хронического посттравматического остеомиелита (ХПТО), включает в себя дисбаланс продукции как простагландинов и гормонов, так и интерлейкинов. Участие интерлейкинов в развитии воспалительной реакции опосредуется их ролью низкомолекулярных медиаторов межклеточных взаимодействий с дальнейшим образованием специфических антител [5]. При посттравматическом остеомиелите исследования продук-

ции цитокинов в комплексе с другими методами оценки иммунного статуса ранее не проводились. Такие исследования необходимы для детального изучения характера возникновения хронического остеомиелита как исхода травматической болезни и выбора методов оптимальной коррекции иммунологического дисбаланса в предоперационном и послеоперационном периодах.

Цель исследования – определить характерные изменения иммунного статуса (общего и регионарного) у больных с посттравматическим остеомиелитом и наметить пути иммунореабилитации у этой группы больных

Объектом исследования послужили 68 больных хроническим посттравматическим остеомиелитом с давностью заболевания от 5 месяцев до 22 лет. Иммунокорригирующее лечение у данной группы больных ранее не проводилось. В качестве контроля использовали показатели иммунитета 20 практически здоровых доноров, а второй группой сравнения послужили данные иммунологических тестов 20 травматологических больных, оперированных после определения уровня цитокинов в венозной крови по поводу открытых переломов длинных трубчатых костей. Исходы операций у травматологических больных – образование первичной костной мозоли, отсутствие гнойных осложнений в послеоперационном периоде. Все группы были сопоставимы по полу и возрасту.

Биоматериал (кровь из локтевой вены) отбирали в две стеклянные пробирки: без стабилизаторов и с 0,1 мл гепарина. Забор осуществлялся в одно и тоже время во всех группах. Кровь для определения уровня цитокинов центрифугировали при 3000 об/мин в течение 15 минут. Сыворотку отбирали в пластиковые эпандорфы и замораживали при температуре -20°C. У больных с посттравматическим остеомиелитом также осуществлялся забор крови из артерий и вен поражённых сегментов.

Для оценки иммунного статуса использовали определение содержания Т-лимфоцитов и их популяций [6], иммуноглобулинов А, М, G [4, 11]. Для оценки функциональной активности лимфоцитов использовали реакцию бласттрансформа-

Таблица 1.

	Доноры (локте- вая вена)	Остеомиелит (локтевая вена)	Остеомиелит (вена поражённого сегмента)	Остеомиелит (артерия)	P 1-2	P 2-3	P 2-4	P 3-4
РТМЛ (ФГА) (ин- декс мигра- ции)	1,25±0,14	1,38±0,12	1,26±0,05	1,33±0,03	P<0,05	P>0,05	P>0,05	P>0,05
РБТЛ (ФГА), %	58,15±1,56	41,75±5,39	55,17±5,29	53,16±4,69	P<0,05	P>0,05	P>0,05	P>0,05
Т-общ, %	65,2±6,3	56,5±1,79	64±1,37	65,33±1,54	P<0,05	P<0,05	P>0,05	P>0,05
Т-акт, %	30,5±1,1	28,5±2,44	37,17±1,67	37,33±2,16	P>0,05	P<0,05	P>0,05	P>0,05
Т-хелп, %	47,2±2,8	38,33±0,76	40,5±0,72	43,5±1,60	P<0,05	P>0,05	P>0,05	P>0,05
Т-супр, %	18,0±2,1	19,16±1,74	23,5±1,14	17,8±3,64	P>0,05	P>0,05	P>0,05	P<0,05
ИРИ т-хелп/ т-супр	2,2±0,03	1,98±0,20	1,7±0,08	2,3±0,15	P>0,05	P>0,05	P>0,05	P>0,05
ФЧ	11,5±1,36	9,2±0,71	10,75±0,84	14,5±2,43	P<,05	P<0,05	P>0,05	P>0,05
ФИ	71,5±0,3	62,83±2,78	65±1,86	63,45±3,12	P<0,05	P>0,05	P>0,05	P>0,05
Ig M, г/л	1,3±2,5	5,48±0,2	3,12±1,2	2,15±0,8	P<0,05	P>0,05	P>0,05	P>0,05
Ig G, г/л	11,8±3,81	14,8±0,6	10,14±1,18	12,0±2,2	P>0,05	P>0,05	P>0,05	P>0,05
Ig A, г/л	1,41±0,12	2,8±0,4	1,4±0,88	2,54±1,2	P>0,05	P>0,05	P>0,05	P>0,05

ции лимфоцитов (РБТЛ) по К. С. Азарёну (1985) и реакцию торможения миграции лейкоцитов с ФГА с расчётом индекса миграции [8]. Уровень цитокинов определяли твёрдофазным иммуноферментным методом (ИФА). В качестве индикаторного фермента применяли пероксидазу хрена. Использовали коммерческие тест-системы ООО «Цитокин» и «Протеиновый контур». Чувствительность составила 10-1000 пг/мл для IL-6 (интерлейкин-6), 50-500 пг/мл для IL-1β (интерлейкин-1β), 30-800 пг/мл для TNF-α. (фактор некроза опухоли-α). Этапы анализа проводились соответственно инструкциям производителей тест-систем.

Для учёта результатов использовали фотометр с микропроцессором, вводя данные стандартных растворов в процессор или калибровочную кривую, для построения которой использовали регрессионный

анализ. Оценку полученных данных проводили с использованием методов вариационной статистики. Результаты определения основных показателей клеточного и гуморального звеньев иммунной системы представлены в таблице №1.

Для получения более полного представления о характере иммунных сдвигов определён уровень провоспалительных цитокинов в системном кровотоке (венозная кровь). Результаты объединены в таблице 2.

Учитывая, что зоной наибольшей эффективности действия цитокинов являются гнойный очаг и прилежащие к нему ткани, нами была предпринята попытка определить особенности местного цитокинового статуса в артериальной и венозной крови поражённой конечности при посттравматическом остеомиелите [9].

Таблица 2.

	ХПТО	Травма	Доноры	P 1-2	P 1-3	P 2-3
TNF-α	82,80±28,6	85,25±15,3	72,06±18,6	P>0,05	P>0,05	P>0,05
IL-1β	83,23±17,53	168,78±27,13	9,27±3,18	P<0,05	P<0,05	P<0,05
IL-6	8,37±3,94	22,27±4,29	5,70±2,59	P<0,05	P>0,05	P<0,05

Таблица 3.

	Вена (интактная конечность)	Вена (поражённый сегмент)	Артерия (поражённый сегмент)	1 и 2	1 и 3	2 и 3
TNF- $\alpha$	82,80 $\pm$ 28,6	171,89 $\pm$ 45,7	154,9 $\pm$ 17,87	P>0,05	P>0,05	P>0,05
IL-1 $\beta$	83,23 $\pm$ 20,53	21,72 $\pm$ 5,25	14,57 $\pm$ 5,31	P<0,05	P<0,05	P>0,05
IL-6	8,37 $\pm$ 3,94	11,03 $\pm$ 1,93	8,32 $\pm$ 1,19	P>0,05	P>0,05	P>0,05

Данные исследования проверены нами при локализации остеомиелитического процесса как в нижних, так и в верхних конечностях. Ранее проводились подобные исследования с определением концентрации цитокинов в биопсийном материале [10].

Были определены статистически достоверные различия уровней провоспалительных цитокинов в системном и регионарном кровотоке. Данные представлены в таблице 3.

Анализ содержания цитокинов в сыворотке крови не позволил выявить существенных различий в содержании фактора некроза опухоли-  $\alpha$  в системном кровотоке как в основной группе, так и в группах травматологических больных и доноров. Вместе с тем отмечено значительное различие содержания IL-1 $\beta$  в сыворотке крови больных с ХПТО (повышение более, чем в 9 раз), травматологических больных соответственно – в 18 раз. Статистически достоверных различий содержания IL-6 в сыворотке не выявлено. Обращает на себя внимание различие уровней IL-1 $\beta$  в системном и регионарном кровотоке поражённого сегмента при остеомиелите. В общем кровотоке он был повышен в 3,8 раза по сравнению с артерией, и в 5,7 раза – с веной поражённого сегмента. Полученные данные подтверждают представление о напряжённости иммунитета и сопротивляемости организма при хроническом гнойном процессе в костной ткани с последующим переходом к иммунодефициту. Учитывая, что длительность заболевания была различна у больных ХПТО, можно утверждать, что при данном заболевании понятие о ремиссии может существовать только клинически.

Более значительное повышение уровня TNF- $\alpha$  у больных с открытыми пе-

реломами длинных трубчатых костей объяснялось тем, что он стимулирует адгезию нейтрофилов на эндотелиальных клетках и их миграцию к очагу воспаления, ускоряет пролиферацию Т-клеток, что способствует более адекватному местному иммунному ответу при проникновении микробных агентов через повреждённые кожные покровы [3]. В присутствии фактора некроза опухоли -  $\alpha$  поглотительная способность макрофагов увеличивается, так как он является их аутокринным и паракринным активатором [7].

В настоящее время более тяжёлый (индустриальный) характер травмы, неоднократные операции, нерациональная антибиотикотерапия способствуют развитию вторичного иммунодефицита у больных ХПТО, что заставляет искать новые пути его коррекции. Наиболее приемлемым у больных посттравматическим остеомиелитом может быть использование препаратов иммунной системы и крови: тималин и интерлейкин-2 человека рекомбинантный дрожжевой (ронколейкин). Тималин восстанавливает изменённое соотношение Т-, В-лимфоцитов, стимулирует клеточный иммунитет и фагоцитоз. Ронколейкин также направленно влияет на усиление пролиферации и дифференцировку Т-лимфоцитов и последующий синтез интерлейкина-2, обеспечивает Т-зависимую секрецию иммуноглобулинов и обладает выраженной иммуностимулирующей активностью при вторичных иммунодефицитах [11]. Тималин применяли в предоперационном периоде и раннем послеоперационном. Клинически отмечались более ранняя нормализация температуры тела или её отсутствие в послеоперационном периоде, менее выраженный болевой синдром и незначительное количество отделяемого из ран. Тималин вводили внутримышечно в

дозе 10 мг, предварительно растворив содержимое флакона в 2 мл изотонического раствора натрия хлорида в течение 8-10 дней. Ронколейкин вводили внутривенно капельно, растворив содержимое флакона (500000 МЕ) в 400 мл изотонического раствора NaCl после проведения курса лечения тималином, что позволило избежать ряда побочных эффектов, связанных с повышенной иммуногенностью препарата. Курс лечения интерлейкином составлял 3-4 инфузии с интервалом в один день. Во время введения препарата учитывали его синергизм с антибиотиками фторхинолонового ряда.

Включение данной программы иммунокоррекции в комплексное лечение больных с посттравматическим остеомиелитом, наряду с рациональной антибиотикотерапией, коррекцией гомеостаза, своевременным оперативным лечением, остеосинтезом аппаратами внешней фиксации при несросшихся переломах и ложных суставах позволили сократить койко-день с 53 в 1995 году до 41,6 в 2003 году.

## ВЫВОДЫ

1. Исследование уровня содержания и механизмов действия цитокинов, определение их роли в патогенезе иммунных нарушений при осложнённой травме могут служить основой для обоснования применения препаратов цитокинов в лечебных целях. Возможно применение цитокинов для направленной иммунокоррекции.

2. Более высокий уровень провоспалительных цитокинов установлен у больных травматологического профиля (повышено содержание IL-1 $\beta$ , IL-6), в то время как у больных с осложнённой травмой определяется умеренное повышение IL-1 $\beta$ .

3. У больных посттравматическим остеомиелитом отсутствуют статистически достоверные отличия содержания провоспалительных цитокинов в регионарном и общем кровотоке.

4. Иммунодефицит при ХИТО характеризуется нарушением как клеточного, так и гуморального иммунитета, снижением активности макрофагов. Сочетанное применение тималина и ронколейкина является обоснованным в комплексном лечении

больных с посттравматическим остеомиелитом.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Гостищев В. К., Пауков В. С., Шкроб Л. О. и др. Состояние факторов иммунной защиты и их коррекция у больных хроническими воспалительными заболеваниями нижних конечностей // Хирургия. – 1996. – №5. – С. 43–47.
2. Дранник Г. Н., Гриневич Ю. А., Дизик Г. М. // Иммуноотропные препараты. – Киев, «Здоров'я». – 1984. – 288 с.
3. Зубова С. Г., Окулов В. Б. Молекулярные механизмы действия фактора некроза опухоли- $\alpha$  и трансформирующего фактора роста- $\beta$  в процессе ответа макрофага на активацию // Иммунология. – 2001. – №5. – С. 18–21.
4. Инструкция по применению сывороток диагностических моноспецифических против Ig G, IgA, Ig M человека сухих. Утверждена 27.01.1995.
5. Кашкин К. П. Цитокины иммунной системы: основные свойства и иммунобиологическая активность. // Клиническая и лабораторная диагностика. – 1998. – №11. – С. 21–32.
6. Новиков Д. К., Новикова В. И. // Клеточные методы иммунодиагностики. – Минск. – 1979. – 222 с.
7. Ража А., Мандель С., Шетти В. и др. Новые представления о биологии миелодиспластических синдромов: усиленный апоптоз и роль цитокинов // Гематология и трансфузиология. – 1999. – Т 44. – №4. – С. 25–29.
8. Сачек М. Г., Косинец А. Н., Адаменко Г. П. // Иммунологические аспекты хирургической инфекции. – Витебск. – 1994. – 140 с.
9. Фрейдлин И. С. Паракринные и аутокринные механизмы цитокиновой регуляции // Иммунология. – 2001. – №5. – С. 4–7.
10. Шаповалов В.М., Овденко А.Г. // Огнестрельный остеомиелит. – С-Пб.; «МОРСАР АВ». – 2000. – 144 с.
11. Mancini G, Carbonara A. O, Heremans J. F. // Immunochemical quantification the antigen by single radial immunodiffusion. – Immunochemistry. – 1965. – №2. – p. 235–254.

Поступила 16.11.2004 г.